Bond™ Ready-to-Use Primary Antibody Ki67 (K2)

Catalog No: PA0230

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West
Benton Lane
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW
United Kingdom
✆ +44 191 215 4242

EN FR IT DE ES PT SV EL DA

Instructions for Use
Please read before using this product.

Mode d'emploi
Á lire avant d'utiliser ce produit.

Istruzioni per l'uso
Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

Gebrauchsanweisung
Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

Instrucciones de uso
Por favor, leer antes de utilizar este producto.

Instruções de Utilização
Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

Bruksanvisning
Var god läs innan ni använder produkten.

Οδηγίες Χρήσης
Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

Brugsanvisning
Læs venligst før produktet tages i brug.

Check the integrity of the packaging before use.
Vérifier que le conditionnement est en bon état avant l'emploi.
Prima dell'uso, controllare l'integrità della confezione.
Vor dem Gebrauch die Verpackung auf Unversehrtheit überprüfen.
Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo.
Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.
Kontrollera att paketet är obrutet innan användning.
Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.
Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

www.LeicaBiosystems.com

Bond™ Ready-To-Use Primary Antibody Ki67 (K2)

Catalog No: PA0230

Intended Use

This reagent is for in vitro diagnostic use.

Ki67 (K2) monoclonal antibody is intended to be used for the qualitative identification by light microscopy of human Ki67 nuclear antigen in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue by immunohistochemical staining using an automated Bond™ system.

The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies and proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Summary and Explanation

Immunohistochemical techniques can be used to demonstrate the presence of antigens in tissue and cells (see "Using Bond Reagents" in your Bond user documentation). Ki67 (K2) primary antibody is a ready to use product that has been specifically optimized for use with Bond Polymer Refine Detection. The demonstration of human Ki67 nuclear antigen is achieved by first, allowing the binding of Ki67 (K2) to the section, and then visualizing this binding using the reagents provided in the detection system. The use of these products, in combination with an automated Bond system, reduces the possibility of human error and inherent variability resulting from individual reagent dilution, manual pipetting and reagent application.

Reagents Provided

Ki67 (K2) is a mouse anti-human monoclonal antibody produced as a tissue culture supernatant, and supplied in Tris buffered saline with carrier protein, containing 0.35% ProClin™ 950 as a preservative.

Total volume = 7 mL.

Clone

K2.

Immunogen

Recombinant Ki67 protein fragment close to the C-terminus.

Specificity

Human Ki67 nuclear antigen expressed in all proliferating cells during late G1, S, M and G2 phases of the cell cycle.

Subclass

IgG1.

Total Protein Concentration

Approx 10 mg/mL.

Antibody Concentration

Greater than or equal to 1 mg/L as determined by ELISA.

Dilution and Mixing

Ki67 (K2) primary antibody is optimally diluted for use on a Bond system. Reconstitution, mixing, dilution or titration of this reagent is not required.

Materials Required But Not Provided

Refer to "Using Bond Reagents" in your Bond user documentation for a complete list of materials required for specimen treatment and immunohistochemical staining using a Bond system.

Storage and Stability

Store at 2–8 °C. Do not use after the expiration date indicated on the container label.

The signs indicating contamination and/or instability of Ki67 (K2) are: turbidity of the solution, odor development, and presence of precipitate.

Return to 2–8 °C immediately after use.

Storage conditions other than those specified above must be verified by the user[1].

Precautions

- This product is intended for *in vitro* diagnostic use.
- The concentration of ProClin™ 950 is 0.35%. It contains the active ingredient 2-methyl-4-isothiazolin-3-one, and may cause irritation to the skin, eyes, mucous membranes and upper respiratory tract. Wear disposable gloves when handling reagents.
- To obtain a copy of the Material Safety Data Sheet contact your local distributor or regional office of Leica Biosystems, or alternatively, visit the Leica Biosystems' Web site, www.LeicaBiosystems.com.
- Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them, should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions[2]. Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents or specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water. Seek medical advice.

- Consult Federal, State or local regulations for disposal of any potentially toxic components.
- Minimize microbial contamination of reagents or an increase in non-specific staining may occur.
- Retrieval, incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. Any such change must be validated by the user.

Instructions for Use

Ki67 (K2) primary antibody was developed for use on an automated Bond system in combination with Bond Polymer Refine Detection. The recommended staining protocol for Ki67 (K2) primary antibody is IHC Protocol F. Heat induced epitope retrieval is recommended using Bond Epitope Retrieval Solution 2 for 20 minutes.

Results Expected

Normal Tissues

Clone K2 stained basal cells of larynx, skin, cervix, colon and esophagus. Staining was also seen in thymus, uterus, tonsil and pituitary. Lipocytes and infiltrating cells in a range of other tissues were detected. (Total number of cases stained = 95).

Tumor Tissues

Clone K2 detected proliferating cell nuclei of squamous cell carcinomas of the esophagus (2/2), larynx (1/1), tongue (2/2), lung (1/1), cervix (1/1) and skin (1/2), and adenocarcinomas of the stomach (2/2), pancreas (1/1), colon (2/2) and rectum (1/2). Clone K2 also demonstrated nuclear staining in carcinomas of the breast (1/2), lung (2/2), kidney (2/2), pancreas (1/1) and liver (2/3), metastatic carcinomas in lymph node (1/2), squamous metaplasia in cervix (1/1) and anaplastic astrocytoma of brain (1/1). No staining was seen in papillary (2/2) and follicular carcinomas of thyroid (2/2), adenocarcinoma of lung (1/1), atypical carcinoid of thymus (1/1), choroid plexus papilloma of brain (1/1), seminomas of testis (2/2), clear cell carcinoma (1/1), mucinous cystadenocarcinoma (1/1), malignant germ cell tumor (1/1) and serous cystadenocarcinoma of ovary (1/1) and metastatic carcinoma of liver (1/1). (Total number of cases stained = 44).

Ki67 (K2) is recommended for the assessment of cell proliferation in normal and neoplastic tissues.

Product Specific Limitations

Ki67 (K2) has been optimized at Leica Biosystems for use with Bond Polymer Refine Detection and Bond ancillary reagents. Users who deviate from recommended test procedures must accept responsibility for interpretation of patient results under these circumstances. The protocol times may vary, due to variation in tissue fixation and the effectiveness of antigen enhancement, and must be determined empirically. Negative reagent controls should be used when optimizing retrieval conditions and protocol times.

Troubleshooting

Refer to reference 3 for remedial action.

Contact your local distributor or the regional office of Leica Biosystems to report unusual staining.

Further Information

Further information on immunostaining with Bond reagents, under the headings Principle of the Procedure, Materials Required, Specimen Preparation, Quality Control, Assay Verification, Interpretation of Staining, Key to Symbols on Labels, and General Limitations can be found in “Using Bond Reagents” in your Bond user documentation.

Bibliography

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.

ProClin™ 950 is a trademark of Supelco, a part of Sigma-Aldrich Corporation.

Date Of Issue

16 September 2009

Anticorps Primaire Prêt À L'Emploi Bond™ Ki67 (K2)

Référence: PA0230

Utilisation prévue

Ce réactif est destiné au diagnostic in vitro.

L'anticorps monoclonal Ki67 (K2) est conçu pour l'identification qualitative en microscopie optique de l'antigène nucléaire Ki67 humain, sur tissu fixé au formol et inclus en paraffine, par marquage immunohistochimique automatisé Bond™.

L'interprétation clinique de tout marquage ou de son absence doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et évaluée dans le contexte des antécédents cliniques du patient et des autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Résumé et explications

Les techniques immunohistochimiques peuvent être utilisées pour la mise en évidence d'antigènes sur tissus ou cellules (voir « Utilisation des réactifs Bond » dans votre manuel d'utilisation Bond). L'anticorps primaire Ki67 (K2) est prêt à l'emploi et a été spécialement optimisé pour Bond Polymer Refine Detection. La mise en évidence de l'antigène nucléaire Ki67 humain s'obtient en laissant tout d'abord Ki67 (K2) s'hybrider sur la coupe, puis en visualisant le complexe au moyen des réactifs fournis avec le système de détection. L'utilisation de ces produits, en association avec un automate Bond, réduit l'éventualité d'une erreur humaine et la variabilité intrinsèque résultant de la dilution, du pipetage manuel et de l'application à titre individuel des réactifs.

Réactifs fournis

Ki67 (K2) est un anticorps monoclonal anti-humain de souris, produit par surnageant de culture de tissu et conditionné dans du tampon salin Tris contenant une protéine de transport et 0,35 % de ProClin™ 950 (conservateur).

Volume total = 7 ml.

Clone

K2.

Immunogène

Fragment de protéine Ki67 recombinante proche de l'extrémité C-terminale.

Spécificité

Antigène nucléaire Ki67 humain exprimé par toutes les cellules en prolifération lors de la phase G1 tardive et des phases S, M et G2 du cycle cellulaire.

Sous-classe

IgG1.

Concentration totale en protéine

Environ 10 mg/ml.

Concentration en anticorps

Supérieure ou égale à 1 mg/l, déterminée par ELISA.

Dilution et mélange

L'anticorps primaire Ki67 (K2) est à dilution optimale pour utilisation dans l'automate Bond. Reconstitution, mélange, dilution ou titration de ce réactif non nécessaire.

Matériel nécessaire mais non fourni

Voir "Utilisation des réactifs Bond" dans votre manuel d'utilisation pour obtenir la liste complète du matériel nécessaire au traitement des échantillons et au marquage immunohistochimique avec le système Bond.

Conservation et stabilité

Conserver à une température comprise entre 2–8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du récipient.

Les signes indicateurs d'une contamination et/ou d'une instabilité de Ki67 (K2) sont les suivants : une turbidité de la solution, la formation d'odeurs et la présence d'un précipité.

Remettre à 2–8 °C immédiatement après usage.

Des conditions de stockage différentes de celles ci-dessus doivent être contrôlées par l'utilisateur[1].

Précautions

- Ce produit est conçu pour le diagnostic *in vitro*.
- La concentration de ProClin™ 950 est de 0,35 %. Contient du 2-méthyl-4-isothiazoline-3-one (ingrédient actif) et peut entraîner une irritation de la peau, des yeux, des muqueuses et des voies aériennes supérieures. Porter des gants jetables lors de la manipulation des réactifs.
- Pour obtenir un exemplaire de la fiche technique des substances dangereuses (Material Safety Data Sheet), contactez votre distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems, ou consultez le site Web de Leica Biosystems : www.LeicaBiosystems.com.

- Les échantillons, avant et après fixation, et tous les matériels ayant été en contact avec eux, doivent être manipulés comme s'ils étaient à risque infectieux et éliminés avec les précautions adéquates[2]. Ne jamais pipeter les réactifs à la bouche et éviter le contact de la peau et des muqueuses avec les réactifs ou les échantillons. Si des réactifs ou des échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, rincer abondamment à l'eau. Consultez un médecin.
- Renseignez-vous sur les règlements fédéraux, nationaux et locaux pour l'élimination des composés potentiellement toxiques.
- Éviter une contamination microbienne des réactifs, qui peut entraîner un marquage non spécifique.
- Des durées ou des températures de démasquage ou d'incubation autres que celles spécifiées peuvent entraîner des résultats erronés. Tout changement doit être validé par l'utilisateur.

Mode d'emploi

L'anticorps primaire Ki67 (K2) a été conçu pour être utilisé sur l'automate Bond conjointement avec Bond Polymer Refine Detection. Le protocole de marquage recommandé pour l'anticorps primaire Ki67 (K2) est IHC Protocol F. Un démasquage d'épitope par la chaleur est recommandé avec Bond Epitope Retrieval Solution 2 durant 20 minutes.

Résultats attendus

Tissus sains

Le clone K2 a marqué les cellules basales du larynx, de la peau, du col de l'utérus, du côlon et de l'œsophage. Un marquage a également été observé dans le thymus, l'utérus, les amygdales et l'hypophyse. Les lipocytes et les cellules d'infiltration d'un éventail d'autres tissus ont été détectés. (Nombre total de cas marqués = 95).

Tissus tumoraux

Le clone K2 a détecté le noyau des cellules en prolifération des épithéliomas spinocellulaires de l'œsophage (2/2), du larynx (1/1), de la langue (2/2), des poumons (1/1), du col de l'utérus (1/1) et de la peau (1/2), ainsi que les adénocarcinomes de l'estomac (2/2), du pancréas (1/1), du côlon (2/2) et du rectum (1/2). Le clone K2 a également produit un marquage nucléaire dans les carcinomes des seins (1/2), des poumons (2/2), des reins (2/2), du pancréas (1/1) et du foie (2/3), les carcinomes métastatiques des ganglions lymphatiques (1/2), les métaplasies en épithélioma du col de l'utérus (1/1) et les astrocytomes anaplasiques du cerveau (1/1). Aucun marquage n'a été observé dans les carcinomes papillaires (2/2) et folliculaires de la thyroïde (2/2), l'adénocarcinome des poumons (1/1), la tumeur carcinoïde atypique du thymus (1/1), le papillome du plexus choroïde du cerveau (1/1), les séminomes des testicules (2/2), le carcinome à cellules claires (1/1), le cystadénocarcinome colloïde (1/1), la tumeur à cellules germinales malignes (1/1) et le cystadénocarcinome séreux des ovaires (1/1), ainsi que le carcinome métastatique du foie (1/1). (Nombre total de cas marqués = 44).

Ki67 (K2) est recommandé pour évaluer la prolifération cellulaire dans les tissus sains et les tissus néoplasiques.

Limites spécifiques du produit

Ki67 (K2) a été optimisé par Leica Biosystems pour une utilisation avec Bond Polymer Refine Detection et les réactifs auxiliaires Bond. Les utilisateurs qui s'écartent des procédures recommandées prennent la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients dans ces conditions. Les durées du protocole peuvent varier, en raison des variations de fixation des tissus et de l'efficacité de la facilitation de l'antigène, et doivent être déterminées empiriquement. Des contrôles réactif négatifs doivent être testés lors de l'optimisation des conditions de démasquage et des durées du protocole.

Identification des problèmes

Voir la référence 3 pour connaître les mesures correctrices.

Prenez contact avec votre distributeur local ou avec le bureau régional de Leica Biosystems pour signaler tout marquage inattendu.

Informations complémentaires

Des informations complémentaires sur l'immunomarquage avec les réactifs Bond, les principes de la méthode, le matériel nécessaire, la préparation des échantillons, le contrôle qualité, les vérifications d'analyse, l'interprétation du marquage, les légendes et symboles sur les étiquettes et les limites générales, peuvent être obtenues dans « Utilisation des réactifs Bond » dans votre manuel d'utilisation Bond.

Bibliographie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.

ProClin™ 950 est une marque de commerce de Supelco, membre du groupe Sigma-Aldrich Corporation.

Date de publication

16 septembre 2009

Anticorpo Primario Pronto All'uso Bond™
Ki67 (K2)
N. catalogo: PA0230

Uso previsto

Reagente per uso diagnostico in vitro.

L'uso dell'anticorpo monoclonale Ki67 (K2) è previsto per l'identificazione qualitativa con microscopio ottico dell'antigene nucleare umano Ki67 in tessuto fissato in formalina, incluso in paraffina, con colorazione immunoistochimica, utilizzando un sistema automatizzato Bond™.

L'interpretazione clinica di un'eventuale colorazione, o della sua assenza, deve avvalersi di studi morfologici e di opportuni controlli ed essere effettuata da patologi qualificati, nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici.

Sommario e spiegazione

Grazie alle tecniche di immunoistochimica è possibile dimostrare la presenza di antigeni nel tessuto e nelle cellule (vedere "Uso dei reagenti Bond" nella documentazione per l'utente Bond). L'anticorpo primario Ki67 (K2) è un prodotto pronto per l'uso che è stato ottimizzato in modo specifico per l'impiego con il Bond Polymer Refine Detection. La dimostrazione dell'antigene nucleare umano Ki67 si ottiene in primo luogo consentendo il legame del Ki67 (K2) con la sezione, e quindi visualizzando il legame stesso per mezzo dei reagenti forniti nel sistema di rilevazione. L'impiego di questi prodotti, insieme a un sistema automatizzato Bond, riduce la possibilità di un errore umano e la relativa variabilità che deriva dalla diluizione individuale del reagente e dal pipettamento e dall'applicazione del reagente eseguiti manualmente.

Reagenti forniti

Il Ki67 (K2) è un anticorpo monoclonale murino anti-umano prodotto come surnatante di coltura tissutale e fornito in soluzione salina tamponata Tris con proteina carrier, contenente 0,35% di ProClin™ 950 come conservante.

Volume totale = 7 ml.

Clone

K2.

Immunogeno

Frammento della proteina Ki67 ricombinante vicino al tratto C-terminale.

Specificità

Antigene nucleare umano Ki67 espresso in tutte le cellule proliferanti durante le fasi G1 tardiva, S, M e G2 del ciclo cellulare.

Sottoclasse

IgG1.

Concentrazione proteica totale

Circa 10 mg/ml.

Concentrazione dell'anticorpo

Uguale o superiore a 1 mg/l, determinata mediante ELISA.

Diluizione e miscelazione

La diluizione dell'anticorpo primario Ki67 (K2) è stata ottimizzata per l'uso con un sistema Bond. Non è necessario ricostituire, miscelare, diluire o titolare il reagente.

Materiale necessario non fornito

Per un elenco completo dei materiali necessari per il trattamento del campione e la colorazione immunoistochimica con un sistema Bond, consultare l'"Uso dei reagenti Bond" nella documentazione per l'utente Bond.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2–8 °C. Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore.

I segni di contaminazione e/o instabilità del Ki67 (K2) sono: torbidità della soluzione, formazione di odori e presenza di un precipitato.

Riportare a 2–8 °C immediatamente dopo l'uso.

L'utente deve verificare eventuali condizioni di conservazione diverse da quelle specificate[1].

Precauzioni

- Il prodotto è destinato all'uso diagnostico *in vitro*.
- La concentrazione del ProClin™ 950 è 0,35%. Esso contiene il principio attivo 2-metil-4-isotiazolin-3-one e può causare irritazione alla cute, agli occhi, alle mucose e alle alte vie respiratorie. Per la manipolazione dei reagenti usare guanti monouso.
- Una copia della Scheda di sicurezza può essere richiesta al distributore locale o all'ufficio di zona di Leica Biosystems o, in alternativa, visitando il sito di Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com.

- I campioni, prima e dopo la fissazione, e tutti i materiali esposti ad essi devono essere manipolati come potenziali vettori di infezione e smaltiti con le opportune precauzioni[2]. Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni con la cute e le mucose. Se un reagente o un campione viene a contatto con zone sensibili, lavare abbondantemente con acqua. Consultare un medico.
- Consultare la normativa nazionale, regionale o locale per lo smaltimento dei componenti potenzialmente tossici.
- Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti per non incrementare il rischio di una colorazione non specifica.
- Tempi o temperature di incubazione o di riconoscimento diversi da quelli specificati possono fornire risultati erronei. Ogni eventuale modifica deve essere validata dall'utente.

Istruzioni per l'uso

L'anticorpo primario Ki67 (K2) è stato sviluppato per essere utilizzato con un sistema automatizzato Bond in associazione con il Bond Polymer Refine Detection. Il protocollo di colorazione consigliato per l'anticorpo primario Ki67 (K2) è l'IHC Protocol F. Per il riconoscimento termoindotto dell'epitopo si consiglia l'uso della Bond Epitope Retrieval Solution 2 per 20 minuti.

Risultati attesi

Tessuti normali

Il clone K2 ha colorato le cellule basali di laringe, cute, cervice, colon ed esofago. Una colorazione è stata osservata anche nel timo, nell'utero, nella tonsilla e nell'ipofisi. Sono stati individuati anche linfociti e cellule infiltranti in una serie di altri tessuti. (Numero totale di casi colorati = 95).

Tessuti neoplastici

Il clone K2 ha individuato nuclei cellulari di carcinomi a cellule squamose di esofago (2/2), laringe (1/1), lingua (2/2), polmone (1/1), cervice (1/1) e cute (1/2) e di adenocarcinomi di stomaco (2/2), pancreas (1/1), colon (2/2) e retto (1/2). Inoltre il clone K2 ha mostrato anche una colorazione nucleare nei carcinomi di mammella (1/2), polmone (2/2), rene (2/2), pancreas (1/1) e fegato (2/3), nei carcinomi metastatici nei linfonodi (1/2), nella metaplasia squamosa nella cervice (1/1) e nell'astrocitoma anaplastico del cervello (1/1). Non è stata osservata alcuna colorazione nei carcinomi papillari (2/2) e follicolari (2/2) della tiroide, nell'adenocarcinoma del polmone (1/1), nel carcinoide atipico del timo (1/1), nel papilloma del plesso coroideo del cervello (1/1), nel seminoma del testicolo (2/2), nel carcinoma a cellule chiare (1/1), nel cistoadenocarcinoma mucinoso (1/1), nel tumore germinale maligno (1/1) e nel cistoadenocarcinoma sieroso dell'ovaio (1/1) e nel carcinoma metastatico del fegato (1/1). (Numero totale di casi colorati = 44).

Si raccomanda l'uso del Ki67 (K2) per la valutazione della proliferazione cellulare nei tessuti normali e in quelli neoplastici.

Limitazioni specifiche del prodotto

Il Ki67 (K2) è stato ottimizzato da Leica Biosystems per l'uso con il Bond Polymer Refine Detection e con i reagenti ausiliari Bond. Gli utenti che modificano le procedure raccomandate devono assumersi la responsabilità dell'interpretazione dei risultati relativi ai pazienti in tali circostanze. I tempi del protocollo possono variare in base alle variazioni nella fissazione del tessuto e nell'efficienza del potenziamento dell'antigene e devono essere definiti in modo empirico. Nell'ottimizzazione delle condizioni di riconoscimento e dei tempi del protocollo si devono impiegare dei controlli negativi del reagente.

Soluzione problemi

Per le azioni di rimedio consultare il riferimento bibliografico n. 3.

Per riferire una colorazione inusuale rivolgersi al distributore locale o all'ufficio di zona di Leica Biosystems.

Ulteriori informazioni

Ulteriori informazioni sull'immunocolorazione con i reagenti Bond si trovano in "Uso dei reagenti Bond" nella documentazione per l'utente Bond, ai titoli Principio della procedura, Materiali necessari, Preparazione del campione, Controllo di qualità, Verifica del saggio, Interpretazione della colorazione, Leggenda dei simboli e delle etichette e Limitazioni generali.

Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.

ProClin™ 950 è un marchio di fabbrica di Supelco, società del gruppo Sigma-Aldrich.

Data di pubblicazione

16 settembre 2009

Gebrauchsfertiger Bond™-Primärantikörper Ki67 (K2)

Bestellnr.: PA0230

Verwendungszweck

Dieses Reagenz ist für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.

Der monoklonale Antikörper Ki67 (K2) ist für den qualitativen lichtmikroskopischen Nachweis des humanen nuklearen Antigens Ki67 in formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem Gewebe durch immunhistochemische Färbung mit einem automatischen Bond™-System vorgesehen.

Die klinische Auswertung der An- oder Abwesenheit einer Färbung sollte durch morphologische Untersuchungen und geeignete Kontrollen ergänzt werden und sollte im Zusammenhang mit der Krankengeschichte eines Patienten und anderen diagnostischen Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

Zusammenfassung und Erläuterung

Immunhistochemische Methoden können dazu verwendet werden, die Anwesenheit von Antigenen in Geweben und Zellen zu demonstrieren (sehen Sie dazu “Das Arbeiten mit Bond-Reagenzien” in Ihrem Bond-Benutzerhandbuch). Der Primärantikörper Ki67 (K2) ist ein gebrauchsfertiges Produkt, das speziell für den Gebrauch mit dem Bond Polymer Refine Detection optimiert wurde. Der Nachweis des humanen nuklearen Antigens Ki67 erfolgt durch die Bindung von Ki67 (K2) an das Präparat und die anschließende Sichtbarmachung dieser Bindung mit den Reagenzien, die im Detektionssystem bereitgestellt werden. Die Verwendung dieser Produkte zusammen mit einem automatischen Bond-System reduziert die Wahrscheinlichkeit menschlicher Fehler und die natürlichen Schwankungen, die beim individuellen Verdünnen von Reagenzien, dem manuellen Pipettieren und dem Auftragen der Reagenzien entstehen.

Mitgelieferte Reagenzien

Ki67 (K2) ist ein monoklonaler Maus-anti-Human-Antikörper, der aus Zellkulturüberstand hergestellt wurde, in Tris-gepufferter Salzlösung mit einem Trägerprotein geliefert wird und 0,35% ProClin™ 950 als Konservierungsmittel enthält.

Gesamtvolumen = 7 ml.

Klon

K2.

Immunogen

Rekombinantes Ki67-Proteinfragment in der Nähe des C-terminalen Endes.

Spezifität

Humanes nukleares Antigen Ki67, das in allen proliferierenden Zellen in der späten G1-, S- M- und G2-Phase des Zellzyklus exprimiert wird.

Subklasse

IgG1.

Gesamtproteinkonzentration

Ca. 10 mg/ml.

Antikörperkonzentration

Größer als oder gleich 1 mg/l, bestimmt mit ELISA.

Verdünnung und Mischung

Der Primärantikörper Ki67 (K2) ist optimal für den Gebrauch mit einem Bond-System verdünnt. Rekonstitution, Mischen, Verdünnen oder Titrieren dieses Reagenzes ist nicht erforderlich.

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Eine vollständige Liste der Materialien, die für die Probenbehandlung und die immunhistochemische Färbung mit dem Bond-System benötigt werden, befindet sich im Abschnitt “Das Arbeiten mit Bond-Reagenzien” in Ihrem Bond-Benutzerhandbuch.

Lagerung und Stabilität

Bei 2–8 °C lagern. Nach dem Ablauf des auf dem Behälteretikett angegebenen Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

Zeichen, die auf eine Kontamination und/oder Instabilität von Ki67 (K2) hinweisen, sind eine Trübung der Lösung, Geruchsentwicklung und das Vorhandensein von Präzipitat.

Unmittelbar nach Gebrauch wieder bei 2–8 °C aufbewahren.

Andere als die oben angegebenen Lagerungsbedingungen müssen vom Anwender selbst getestet werden[1].

Vorsichtsmaßnahmen

- Dieses Produkt ist für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Die Konzentration von ProClin™ 950 beträgt 0,35%. Es enthält 2-Methyl-4-isothiazolin-3-on als aktiven Bestandteil und kann Reizungen der Haut, Augen, Schleimhäute und oberen Atemwege verursachen. Tragen Sie beim Umgang mit Reagenzien Einweghandschuhe.

- Ein Exemplar des Sicherheitsdatenblattes erhalten Sie von Ihrer örtlichen Vertriebsfirma, von der Regionalniederlassung von Leica Biosystems oder über die Webseite von Leica Biosystems unter www.LeicaBiosystems.com.
- Behandeln Sie Präparate vor und nach der Fixierung sowie sämtliche damit in Berührung kommenden Materialien so, als ob diese Infektionen übertragen könnten und entsorgen Sie sie unter Beachtung der entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen[2]. Pipettieren Sie Reagenzien niemals mit dem Mund und vermeiden Sie den Kontakt von Haut und Schleimhäuten mit Reagenzien oder Präparaten. Falls Reagenzien oder Präparate mit empfindlichen Bereichen in Kontakt gekommen sind, spülen Sie diese mit reichlich Wasser. Holen Sie anschließend ärztlichen Rat ein.
- Beachten Sie bei der Entsorgung potentiell toxischer Bestandteile die behördlichen und örtlichen Vorschriften.
- Mikrobielle Kontaminationen sollten minimiert werden, da es sonst zu einer Zunahme unspezifischer Färbungen kommen kann.
- Die Verwendung anderer als den angegebenen Retrievals, Inkubationszeiten oder Temperaturen kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Diesbezügliche Änderungen müssen vom Anwender selbst getestet werden.

Gebrauchsanleitung

Der Primärantikörper Ki67 (K2) wurde für die Verwendung mit einem automatischen Bond-System in Verbindung mit dem Bond Polymer Refine Detection entwickelt. Das empfohlene Färbeverfahren für den Primärantikörper Ki67 (K2) ist das IHC Protocol F. Das hitzeinduzierte Epitop-Retrieval wird unter Verwendung der Bond Epitope Retrieval Solution 2 für 20 Minuten empfohlen.

Erwartete Ergebnisse

Normale Gewebe

Klon K2 färbte Basalzellen des Kehlkopfes, der Haut, Cervix, des Kolons und der Speiseröhre. Darüber hinaus wurde in Thymus, Uterus, Mandeln und Hypophyse eine Färbung beobachtet. Bei einer Reihe anderer Gewebe wurden Lipozyten und infiltrierende Zellen nachgewiesen. (Gesamtanzahl der gefärbten Fälle = 95).

Tumorgewebe

Klon K2 erkannte proliferierende Zellkerne von Plattenepithelkarzinomen der Speiseröhre (2/2), des Kehlkopfes (1/1), der Zunge (2/2), Lunge (1/1), Cervix (1/1) und Haut (1/2) sowie Adenokarzinome des Magens (2/2), Pankreas (1/1), Kolons (2/2) und Rektums (1/2). Klon K2 zeigte außerdem eine nukleare Färbung bei Karzinomen der Mamma (1/2), Lunge (2/2), Niere (2/2), des Pankreas (1/1) und der Leber (2/3), metastatischen Karzinomen der Lymphknoten (1/2), squamösen Metaplasien der Cervix (1/1) und anaplastischen Astrozytomen des Gehirns (1/1). Bei papillären (2/2) und follikulären (2/2) Schilddrüsenkarzinomen, Lungenadenokarzinomen (1/1), atypischen Thymuskarzinoiden (1/1), Plexuspapillomen des Gehirns (1/1), Seminomen der Hoden (2/2), Klarzellkarzinomen (1/1), muzinösen Zystadenokarzinomen (1/1), malignen Keimzelltumoren (1/1), serösen Zystadenokarzinomen des Ovars (1/1) und metastatischen Karzinomen der Leber (1/1) wurde keine Färbung festgestellt. (Gesamtanzahl der gefärbten Fälle = 44).

Ki67 (K2) wird für die Beurteilung der Zellproliferation in normalen und neoplastischen Geweben empfohlen.

Produktspezifische Einschränkungen

Ki67 (K2) wurde von Leica Biosystems zur Verwendung mit dem Bond Polymer Refine Detection und Bond-Zusatzreagenzien optimiert. Anwender, die andere als die empfohlenen Testverfahren verwenden, müssen unter diesen Umständen die Verantwortung für die Auswertung der Patientenergebnisse übernehmen. Die Verfahrenszeiten können aufgrund von Unterschieden in der Gewebefixierung und der Wirksamkeit der Antigenverstärkung variieren und müssen empirisch bestimmt werden. Bei der Optimierung der Retrieval-Bedingungen und Verfahrenszeiten sollten negative Reagenzkontrollen eingesetzt werden.

Fehlersuche

Maßnahmen zur Abhilfe beim Auftreten von Fehlern finden Sie in Referenz 3.

Falls Sie ungewöhnliche Färbeergebnisse beobachten, wenden Sie sich an Ihre örtliche Vertriebsfirma oder an die Regionalniederlassung von Leica Biosystems.

Weitere Informationen

Weitere Informationen zur Immunfärbung mit Bond-Reagenzien finden Sie in den Abschnitten Grundlegende Vorgehensweise, Erforderliches Material, Probenvorbereitung, Qualitätskontrolle, Assay-Verifizierung, Deutung der Färbung, Schlüssel der Symbole auf den Etiketten und Allgemeine Einschränkungen in “Das Arbeiten mit Bond-Reagenzien” in Ihrem Bond-Benutzerhandbuch.

Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.

ProClin™ 950 ist eine Marke von Supelco, einem Unternehmen der Sigma-Aldrich Corporation.

Ausgabedatum

16. September 2009

Anticuerpo Primario Listo Para Usar Bond™
Ki67 (K2)
Nº de catálogo: PA0230

Indicaciones de uso

Este reactivo es para uso diagnóstico in vitro.

El anticuerpo monoclonal Ki67 (K2) está destinado a utilizarse en la identificación cualitativa por microscopía óptica del antígeno nuclear Ki67 humano en tejidos fijados en formalina e incluidos en parafina, mediante tinción inmunohistoquímica con el sistema automatizado Bond™.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de la ausencia de ésta debe complementarse con estudios morfológicos y controles adecuados, y debe evaluarla un patólogo cualificado junto con el historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Pueden utilizarse técnicas inmunohistoquímicas para demostrar la presencia de antígenos en tejidos y células (consulte “Uso de reactivos Bond” en la documentación del usuario de Bond). El anticuerpo primario Ki67 (K2) es un producto listo para usar que se ha optimizado específicamente para su uso con Bond Polymer Refine Detection. La demostración del antígeno nuclear Ki67 humano se consigue, en primer lugar, permitiendo la unión de Ki67 (K2) al corte y, a continuación, visualizando esta unión mediante los reactivos que se proporcionan en el sistema de detección. El uso de estos productos, en combinación con el sistema automatizado Bond, reduce la posibilidad de errores humanos y la variabilidad inherente resultante de la dilución de cada reactivo, el pipeteo manual y la aplicación del reactivo.

Reactivos suministrados

Ki67 (K2) es un anticuerpo monoclonal antihumano de ratón que se produce como sobrenadante en cultivos de tejido, y se suministra en solución salina tamponada de Tris con proteína portadora, que contiene el 0,35% de ProClin™ 950 como conservante.

Volumen total = 7 mL.

Clon

K2.

Inmunógeno

Fragmento de proteína Ki67 recombinante cercano al extremo terminal C.

Especificidad

Antígeno nuclear Ki67 humano expresado en todas las células proliferativas durante las fases G1 tardía, S, M y G2 del ciclo celular.

Subclase

IgG1.

Concentración total de proteína

Aprox. 10 mg/mL.

Concentración de anticuerpos

Mayor o igual que 1 mg/L según lo determinado por ELISA.

Dilución y mezcla

El anticuerpo primario Ki67 (K2) se presenta en dilución óptima para su uso en un sistema Bond. No es necesaria la reconstitución, mezcla, dilución o titulación de este reactivo.

Material necesario pero no suministrado

Consulte en el apartado “Uso de reactivos Bond” de la documentación de usuario de Bond la lista completa del material necesario para el tratamiento de las muestras y la tinción inmunohistoquímica cuando se utiliza el sistema Bond.

Conservación y estabilidad

Debe conservarse a 2–8 °C. No se debe utilizar después de la fecha de caducidad que aparece en la etiqueta del recipiente.

Los signos que indican contaminación y/o inestabilidad de Ki67 (K2) son: turbidez de la solución, aparición de olor y presencia de precipitado.

Volver a guardar a 2–8 °C inmediatamente después de su uso.

Si las condiciones de conservación son diferentes de las especificadas, el usuario debe realizar las comprobaciones necesarias[1].

Precauciones

- Este producto es para uso diagnóstico *in vitro*.
- La concentración de ProClin™ 950 es de 0,35%. Contiene el principio activo 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, que puede producir irritación en la piel, ojos, mucosas y tracto respiratorio superior. Lleve siempre guantes desechables cuando manipule los reactivos.
- Para obtener una copia de la Hoja de datos de seguridad de los materiales, póngase en contacto con el distribuidor local o con la oficina regional de Leica Biosystems, o visite el sitio Web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com.

- Las muestras, antes y después de ser fijadas, y cualquier material en contacto con ellas, deben ser tratados como sustancias capaces de transmitir infecciones y deben ser eliminadas con las precauciones correspondientes[2]. No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y las mucosas con reactivos o muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas sensibles, lávelas enseguida con abundante agua. Consulte a un médico.
- Consulte la normativa federal, nacional o local referente a la eliminación de sustancias potencialmente tóxicas.
- Minimice la contaminación microbiana de los reactivos, ya que puede producir un aumento de las tinciones inespecíficas.
- Los tiempos de exposición e incubación, y las temperaturas diferentes de las especificadas pueden dar resultados erróneos. Cualquier cambio que se produzca deberá ser validado por el usuario.

Instrucciones de uso

El anticuerpo primario Ki67 (K2) se ha desarrollado para su uso en un sistema automatizado Bond en combinación con Bond Polymer Refine Detection. El protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo primario Ki67 (K2) es IHC Protocol F. Se recomienda la exposición de epítopos inducida por calor usando Bond Epitope Retrieval Solution 2 durante 20 minutos.

Resultados esperados

Tejidos normales

El clon K2 tiñó células basales de laringe, piel, cérvix, colon y esófago. También se observó tinción en timo, útero, amígdala y pituitaria. Se detectaron lipocitos y células infiltrantes en otros diversos tejidos. (Número total de casos teñidos = 95).

Tejidos tumorales

El clon K2 detectó núcleos de células proliferativas de carcinomas de células escamosas de esófago (2/2), laringe (1/1), lengua (2/2), pulmón (1/1), cérvix (1/1) y piel (1/2), y adenocarcinomas de estómago (2/2), páncreas (1/1), colon (2/2) y recto (1/2). El clon K2 también mostró tinción nuclear en carcinomas de mama (1/2), pulmón (2/2), riñón (2/2), páncreas (1/1) e hígado (2/3), carcinomas metastásicos de nodo linfático (1/2), metaplasia escamosa en cérvix (1/1) y astrocitoma anaplásico de encéfalo (1/1). No se observó tinción en carcinomas papilares (2/2) y foliculares de tiroides (2/2), adenocarcinoma de pulmón (1/1), carcinoide atípico de timo (1/1), papiloma de plexo coroideo de encéfalo (1/1), seminomas de testículos (2/2), carcinoma de células claras (1/1), cistadenocarcinoma mucoso (1/1), tumor maligno de células germinales (1/1), cistadenocarcinoma seroso de ovario (1/1) y carcinoma metastásico de hígado (1/1). (Número total de casos teñidos = 44).

Se recomienda el uso de Ki67 (K2) para la evaluación de la proliferación celular en tejidos normales y neoplásicos.

Limitaciones específicas del producto

Ki67 (K2) se ha optimizado en Leica Biosystems para su uso con Bond Polymer Refine Detection y reactivos auxiliares Bond. Los usuarios que se aparten de los procedimientos de análisis recomendados deben asumir la responsabilidad de interpretar los resultados del paciente tomando en cuenta estas circunstancias. Los tiempos del protocolo pueden diferir debido a las variaciones en la fijación de los tejidos y en la eficacia de la preservación del antígeno, y deben determinarse empíricamente. Se debe utilizar controles negativos con reactivos a la hora de optimizar las condiciones de detección y los tiempos de protocolo.

Resolución de problemas

Consulte la referencia 3 para ver las acciones correctoras.

Póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems para informar de cualquier tinción anómala.

Más información

Para obtener más información sobre inmunotinciones con reactivos Bond, consulte los apartados Principio del procedimiento, Material necesario, Preparación de las muestras, Control de calidad, Verificación del análisis, Interpretación de la tinción, Clave de símbolos en las etiquetas y Limitaciones generales de la sección “Utilización de Reactivos Bond” de la documentación de usuario suministrada por Bond.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.

ProClin™ 950 es una marca registrada de Supelco, parte de Sigma-Aldrich Corporation.

Fecha de publicación

16 de septiembre de 2009

Anticorpo Primário Pronto a Usar Bond™
Ki67 (K2)
Nº de Catálogo: PA0230

Utilização Prevista

Este reagente destina-se a utilização diagnóstica in vitro.

O anticorpo monoclonal Ki67 (K2) destina-se a ser usado para a identificação qualitativa por microscopia óptica do antigénio nuclear Ki67 humano em tecidos fixos com formalina e embebidos em parafina por coloração imunohistoquímica utilizando um sistema Bond™ automatizado.

A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos utilizando controlos adequados, e deve ser avaliada no contexto da história clínica do doente e de outros testes complementares de diagnóstico por um anátomo-patologista qualificado.

Resumo e Explicação

As técnicas de imunohistoquímica podem ser utilizadas para demonstrar a presença de antigénios em tecidos e células (ver "Utilizar os Reagentes Bond" na documentação do utilizador Bond). O anticorpo primário Ki67 (K2) consiste num produto pronto usar que foi especificamente optimizado para utilização com Bond Polymer Refine Detection. A demonstração do antigénio nuclear Ki67 humano é obtida por, primeiro, permitindo a ligação de Ki67 (K2) à secção e visualizando-a posteriormente utilizando os reagentes fornecidos no sistema de detecção. A utilização destes produtos, em combinação com um sistema Bond automatizado, reduz a possibilidade de erro humano e da variabilidade inerente resultante da diluição do reagente individual, pipetagem manual e aplicação de reagente.

Reagentes Fornecidos

Ki67 (K2) é um anticorpo monoclonal anti-humano de ratinho produzido como sobrenadante de cultura tecidular e fornecida em solução salina com tampão Tris com proteína transportadora, contendo 0,35% de ProClin ™ 950 como conservante.

Volume total = 7 mL.

Clone

K2.

Imunogénio

Fragmento de proteína Ki67 recombinante próximo da parte C-terminal.

Especificidade

Antigénio nuclear Ki67 humano expresso em todas as células proliferantes durante o final da fase G1, fases S, M e G2 do ciclo celular.

Subclasse

IgG1.

Concentração de Proteínas Totais

Aproximadamente 10 mg/mL.

Concentração de Anticorpos

Maior ou igual a 1 mg/L conforme determinado por ELISA.

Diluição e Mistura

O anticorpo primário Ki67 (K2) apresenta-se com uma diluição ideal para utilização num sistema Bond. Não é necessária reconstituição, mistura, diluição ou titulação deste reagente.

Materiais Necessários Mas Não Fornecidos

Consultar "Usar os reagentes Bond" na sua documentação do utilizador Bond para uma lista completa de materiais necessários para tratamento de amostras e coloração imunohistoquímica usando um sistema Bond.

Armazenamento e Estabilidade

Conservar entre 2–8 °C. Não utilize após o fim do prazo de validade referido no rótulo do recipiente.

Os sinais que indicam contaminação e/ou instabilidade de Ki67 (K2) são: turvação da solução, desenvolvimento de odor e presença de precipitado.

Coloque entre 2–8 °C imediatamente depois de utilizar.

Condições de armazenamento diferentes das acima especificadas devem ser confirmadas pelo utilizador [1].

Precauções

- Este produto destina-se a utilização diagnóstica *in vitro*.
- A concentração de ProClin™ 950 é de 0,35%. Contém o ingrediente activo 2-metil-4-isotiazolina-3-a e pode provocar irritação da pele, olhos, membranas mucosas e vias aéreas superiores. Use luvas descartáveis quando manipular os reagentes.
- Para obter uma cópia da Ficha de Dados de Segurança do Material, entre em contacto com o seu distribuidor local ou sucursal regional da Leica Biosystems ou, em alternativa, visite o site da Leica Biosystems na internet, www.LeicaBiosystems.com.

- As amostras, antes e depois da fixação, e todo o material que a elas seja exposto, devem ser manipulados como capazes de transmitir infecção e eliminados tomando as precauções adequadas[2]. Nunca pipete reagentes com a boca e evite o contacto entre a pele e membranas mucosas com reagentes ou amostras. Se reagentes ou amostras entrarem em contacto com áreas sensíveis, lave com uma quantidade abundante de água. Consulte um médico.
- Consulte os regulamentos federais, estatais e locais relativamente à eliminação de quaisquer componentes potencialmente tóxicos.
- Minimize a contaminação microbiana dos reagentes ou poderá ocorrer um aumento da coloração inespecífica.
- A utilização de tempos e temperaturas de recuperação e incubação diferentes dos especificados pode produzir resultados erróneos. Qualquer alteração deste tipo deve ser validada pelo utilizador.

Instruções de Utilização

O anticorpo primário Ki67 (K2) foi desenvolvido para utilização num sistema Bond automatizado em combinação com Bond Polymer Refine Detection. O protocolo de coloração indicado para o anticorpo primário Ki67 (K2) é o IHC Protocol F. Recomenda-se a recuperação de epítopos induzida por calor utilizando a Bond Epitope Retrieval Solution 2 durante 20 minutos.

Resultados Esperados

Tecidos normais

O clone K2 corou células basais da laringe, pele, colo do útero, cólon e esófago. Também foi observada coloração no timo, útero, amígdala e pituitária. Foram detectados lipócitos e células infiltrativas numa ampla variedade de outros tecidos. (Número total de casos corados = 95).

Tecidos tumorais

O clone K2 detectou núcleos celulares proliferativos de carcinomas de células escamosas do esófago (2/2), laringe (1/1), língua (2/2), pulmão (1/1), colo do útero (1/1) e pele (1/2) e adenocarcinomas do estômago (2/2), pâncreas (1/1), cólon (2/2) e recto (1/2). O clone K2 também demonstrou coloração nuclear em carcinomas da mama (1/2), pulmão (2/2), rim (2/2), pâncreas (1/1) e fígado (2/3), carcinomas metastáticos dos gânglios linfáticos (1/2), metaplasia escamosa do colo do útero (1/1) e astrocitoma anaplásico do cérebro (1/1). Não foi observada qualquer coloração em carcinomas papilares (2/2) e foliculares da tiróide (2/2), adenocarcinoma do pulmão (1/1), carcinóide atípico do timo (1/1), papiloma de plexo coroideu do cérebro (1/1), seminomas testiculares (2/2), carcinoma de células claras (1/1), cistadenocarcinoma mucinoso (1/1), tumor de células germinativas maligno (1/1) e cistadenocarcinoma seroso do ovário (1/1) e carcinoma metastático do fígado (1/1). (Número total de casos corados = 44).

A utilização de Ki67 (K2) está recomendada na avaliação da proliferação celular em tecidos normais e neoplásicos.

Limitações Específicas do Produto

Ki67 (K2) foi optimizado na Leica Microystems para utilização com Bond Polymer Refine Detection e reagentes auxiliares Bond. Os utilizadores que se desviem dos procedimentos de teste recomendados devem assumir a responsabilidade pela interpretação dos resultados dos doentes nestas circunstâncias. Os tempos de protocolo podem variar, devido a variações na fixação tecidular e na eficácia da valorização com antigénios, devendo ser determinados de forma empírica. Devem ser utilizados controlos de reagente negativos quando se optimizam as condições de recuperação e os tempos do protocolo.

Resolução de Problemas

Consulte a referência 3 para acções de resolução.

Entre em contacto com o seu distribuidor local ou com a sucursal regional da Leica Biosystems para notificar qualquer coloração pouco habitual.

Informações Adicionais

Poderá encontrar informações adicionais sobre imunocoloração com reagentes Bond nas secções de Princípios do Procedimento, Material Necessário, Preparação da Amostra, Controlo de Qualidade, Verificação do Ensaio, Interpretação da Coloração, Significado dos Símbolos nos Rótulos e Limitações Gerais em “Utilizar os Reagentes Bond” na documentação do utilizador Bond.

Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.

ProClin™ 950 é uma marca comercial de Supelco, parte da Sigma-Aldrich Corporation.

Data de Emissão

16 de setembro de 2009

Bond™ Primär antikropp - Färdig att Användas
Ki67 (K2)
Katalognr: PA0230

Användningsområde
Reagenset är avsett för in vitro-diagnostik.

Den monoklonala antikroppen Ki67 (K2) är avsedd att användas för kvalitativ bestämning i ljusmikroskopi av human Ki67-nukleärantigen i formalinfixerad, paraffininbäddad vävnad, genom immunhistokemisk färgning i det automatiska systemet Bond™.

Den kliniska tolkningen av varje infärgning, eller utebliven infärgning, måste alltid kompletteras med morfologiska studier och lämpliga kontroller. Utvärderingen bör göras av kvalificerad patolog och inkludera patientens anamnes och övriga diagnostiktester.

Förklaring och sammanfattning
Med immunhistokemiska metoder kan man påvisa förekomsten av antigener i vävnad och celler (se ”Använda Bond-reagens” i användardokumentationen från Bond). Den primära antikroppen Ki67 (K2) är en bruksfärdig produkt som speciellt optimerats för användning med Bond Polymer Refine Detection. Påvisande av human Ki67-nukleärantigen uppnås genom att man först låter Ki67 (K2) binda till snittet och därefter visualiserar denna bindning med hjälp av de reagens som ingår i detektionssystemet. Användning av dessa produkter tillsammans med det automatiska Bond-systemet reducerar risken för mänskliga misstag och för den inherenta spridning som orsakas av individuell reagensutspädning, manuell pipettering och manuell reagenstillsättning.

Ingående reagens
Ki67 (K2) är en anti-human monoklonal antikropp från mus, producerad som supernatant från cellkultur. Den levereras i trisbuffrad koksaltlösning med bärarprotein. Lösningen innehåller 0,35 % ProClin ™ 950 som konserveringsmedel.

Total volym = 7 ml.

Klon
K2.

Immunogen
Rekombinant Ki67-proteinfragment nära C-änden.

Specificitet
Human Ki67-nukleärantigen uttrycktes i alla prolifererande celler under sena G1-, S-, M- och G2-faser av cellcykeln.

Undergrupp
IgG1.

Total proteinkoncentration
Omkring 10 mg/ml.

Antikroppskoncentration
Större än eller lika med 1 mg/l, enligt bestämning med ELISA.

Spädning och blandning
Den primära antikroppen Ki67 (K2) är optimalt utspädd för användning på ett Bond-system. Denna reagens behöver varken rekonstitueras, blandas, spädas eller titreras.

Nödvändig materiel som ej medföljer
I ”Använda Bond-reagens” i Bond-användardokumentationen finns en fullständig lista med den materiel du behöver för att behandla ett prov och för immunhistokemisk färgning med ett Bond-system.

Förvaring och stabilitet
Förvaras vid 2–8 °C. Använd inte efter det utgångsdatum som anges på flaskans etikett.

Tecken som indikerar kontaminering och/eller instabilitet hos Ki67 (K2) är: grumling i lösningen, luktutveckling och förekomst av fällning.

Ställ tillbaka i 2–8 °C omedelbart efter bruk.

Andra förvaringsbetingelser än de ovan angivna måste verifieras av användaren[1].

Säkerhetsföreskrifter
- Produkten är avsedd för *in vitro*-diagnostik.
- Halten ProClin™ 950 är 0,35 %. Den aktiva ingrediensen 2-metyl-4-isotiazolin-3-on kan orsaka irritationer i hud, ögon, slemhinnor och de övre luftvägarna. Använd engångshandskar när du hanterar reagens.
- Du kan få tag på ett säkerhetsdatablad genom att kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor, eller besöka Leica Biosystems webbplats www.LeicaBiosystems.com.
- Prover, både före och efter fixering, samt all materiel som exponeras för dem, bör behandlas och avfallshanteras som potentiellt smittbärande material[2]. Munpipettera aldrig reagens och undvik att hud eller slemhinnor kommer i kontakt med reagens eller prover. Om reagens eller prover skulle komma i kontakt med känsliga områden, tvätta dig med stora mängder vatten. Kontakta läkare.

- Angående avfallshantering av potentiellt toxiska material hänvisar vi till gällande europeiska, nationella och lokala bestämmelser och förordningar.
- Minimera mikrobiologisk kontamination av reagens. Om detta inte görs kan det leda till en ökad icke-specifik infärgning.
- Om andra tider eller temperaturer används för inkubation vid retrieval/återvinning kan resultaten bli otillförlitliga. Varje sådan förändring måste valideras av användaren.

Bruksanvisning

Den primära antikroppen Ki67 (K2) har utvecklats för användning på det automatiserade Bond-systemet i kombination med Bond Polymer Refine Detection. Rekommenderat färgningsprotokoll för primär antikropp Ki67 (K2) är IHC Protocol F. Värmeinducerad epitopåtervinning rekommenderas med användande av Bond Epitope Retrieval Solution 2 i 20 minuter.

Förväntade resultat

Normala vävnader

Klon K2 färgade basala celler av struphuvud, hud, livmoderhals, tjocktarm och matstrupe. Färgning observerades också i tymus, livmoder, tonsill och hypofys. Lipocyter och infiltrerande celler i ett antal andra vävnader detekterades. (Totalt antal fall färgade = 95).

Tumörvävnader

Klon K2 detekterade prolifererande cellkärnor av skivepitelcarcinom i matstrupe (2/2), struphuvud (1/1), tunga (2/2), lunga (1/1), livmoderhals (1/1) och hud (1/2), och adenocarcinom av mage (2/2), pankreas (1/1), tjocktarm (2/2) och rektum (1/2). Klon K2 uppvisade även nukleär färgning av carcinom i bröst (1/2), lunga (2/2), njure (2/2), pankreas (1/1) och lever (2/3), metastasiska carcinom i lymfknuta (1/2), skvamös metaplasi i livmoderhals (1/1) och anaplastiskt astrocytom i hjärna (1/1). Ingen färgning observerades i papillära (2/2) och follikulära carcinom i sköldkörtel (2/2), adenocarcinom i lunga (1/1), atypisk carcinoid av tymus (1/1) plexus chorioideus-papillom i hjärna (1/1), seminom i testikel (2/2), klarcellscarcinom (1/1), musinöst cystadenocarcinom (1/1), malign germinalcellstumör (1/1) och seröst cystadenocarcinom i äggstock (1/1) och metastasiskt carcinom i lever (1/1). (Totalt antal fall färgade = 44).

Ki67 (K2) rekommenderas för bedömning av cellproliferering i normala och neoplastiska vävnader.

Specifika begränsningar för produkten

Ki67 (K2) har optimerats vid Leica Biosystems för användning med Bond Polymer Refine Detection och Bond hjälpreagenser. Användare som inte följer rekommenderade testprotokoll måste ta på sig ansvaret för att korrekt tolka patientresultat under dessa förhållanden. Som följd av variationer i vävnadsfixering och effektivitet hos antigensförstärkningen kan protokollets tider variera och de måste fastställas empiriskt. Negativa reagenskontroller bör användas när man optimerar återvinningsbetingelser och protokolltider.

Felsökning

Se referens 3 för förslag till åtgärder.

Kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor för att rapportera onormal infärgning.

Mer information

Mer information om immunfärgning med Bond-reagens finns under rubrikerna Bakgrund till metoden, Nödvändig materiel, Förbereda provet, Kvalitetskontroll, Verifiering av assayer, Tolka infärgningsresultat, Symbolförklaring för etiketter och Allmänna begränsningar i ”Använda Bond-reagens” i Bonds användardokumentation.

Litteraturförteckning

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.

ProClin™ 950 är ett varumärke för Supelco som ingår i Sigma-Aldrich Corporation.

Utgivningsdatum

16 september 2009

Έτοιμο Για Χρήση Πρωτογενές Αντίσωμα Bond™ Ki67 (K2)

Αρ. Καταλόγου: PA0230

Σκοπός Χρήσης

Αυτό το αντιδραστήριο είναι για διαγνωστική χρήση in vitro.

Το μονοκλωνικό αντίσωμα Ki67 (K2) προορίζεται για χρήση για την ποιοτική ταυτοποίηση με φωτομικροσκοπία του ανθρώπινου πυρηνικού αντιγόνου Ki67 σε μονιμοποιημένο σε φορμόλη και ενσωματωμένο σε παραφίνη ιστό με ανοσοϊστοχημική χρώση, με χρήση του αυτοματοποιημένου συστήματος Bond™.

Η κλινική ερμηνεία της παρουσίας ή απουσίας χρώσης θα πρέπει να συμπληρώνεται με μελέτες μορφολογίας και κατάλληλα δείγματα ελέγχου και θα πρέπει να αξιολογείται από έναν ειδικευμένο παθολόγο, στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων.

Περίληψη και Επεξήγηση

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ανοσοϊστοχημικές μέθοδοι για την κατάδειξη της παρουσίας αντιγόνων στον ιστό και τα κύτταρα (δείτε "Χρήση των αντιδραστηρίων Bond" στην τεκμηρίωση χρήσης του Bond). Το πρωτογενές αντίσωμα Ki67 (K2) είναι ένα προϊόν έτοιμο για χρήση, που έχει βελτιστοποιηθεί ειδικά για χρήση με το Bond Polymer Refine Detection. Η κατάδειξη του ανθρώπινου πυρηνικού αντιγόνου Ki67 επιτυγχάνεται πρώτα επιτρέποντας τη δέσμευση του Ki67 (K2) στην τομή, και μετά οπτικοποιώντας αυτή τη δέσμευση με τη χρήση των αντιδραστηρίων που παρέχονται στο σύστημα ανίχνευσης. Η χρήση αυτών των προϊόντων, σε συνδυασμό με ένα αυτοματοποιημένο σύστημα Bond, μειώνει την πιθανότητα του ανθρώπινου σφάλματος και την εγγενή ποικιλότητα που προκαλείται από αραίωση συγκεκριμένου αντιδραστηρίου, χειροκίνητη αναρρόφηση με πιπέτα και εφαρμογή αντιδραστηρίου.

Αντιδραστήρια που Παρέχονται

Το Ki67 (K2) είναι ένα μονοκλωνικό αντι-ανθρώπινο αντίσωμα ποντικού που παράγεται ως υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας και παρέχεται σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα Tris με πρωτεΐνη φορέα που περιέχει 0,35% ProClin™ 950 ως συντηρητικό.

Συνολικός όγκος = 7 mL.

Κλώνος

K2.

Ανοσογόνο

Ανασυνδυασμένο πρωτεϊνικό τμήμα Ki67 κοντά στο C-τελικό.

Ειδικότητα

Ανθρώπινο πυρηνικό αντιγόνο Ki67 που εκφράζεται σε όλα τα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα στη διάρκεια των τελευταίων φάσεων G1, S, M και G2 του κυτταρικού κύκλου.

Υποκατηγορία

IgG1.

Συνολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Περίπου 10 mg/mL.

Συγκέντρωση Αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 1 mg/L, όπως καθορίζεται από το ELISA.

Αραίωση και Ανάμειξη

Το πρωτογενές αντίσωμα Ki67 (K2) αραιώνεται βέλτιστα για χρήση σε σύστημα Bond. Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμιξη, αραίωση ή τιτλοδότηση αυτού του αντιδραστηρίου.

Υλικά Που Απαιτούνται Αλλά Δεν Παρέχονται

Για μια πλήρη λίστα των υλικών που απαιτούνται για την επεξεργασία δειγμάτων και την ανοσοϊστοχημική χρώση με τη χρήση του συστήματος Bond, ανατρέξτε στην ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων Bond" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της Bond.

Φύλαξη και Σταθερότητα

Αποθηκεύστε το προϊόν στους 2–8 °C. Μη το χρησιμοποιήσετε μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του δοχείου.

Οι ενδείξεις που υποδηλώνουν μόλυνση ή/και αστάθεια του Ki67 (K2) είναι: θολότητα του διαλύματος, δημιουργία οσμής και παρουσία ιζήματος.

Επαναφέρετε το προϊόν στους 2–8 °C αμέσως μετά τη χρήση.

Οποιεσδήποτε άλλες συνθήκες αποθήκευσης εκτός από αυτές που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να ελέγχονται από τον χρήστη[1].

Προφυλάξεις

- Αυτό το προϊόν προορίζεται για διαγνωστική χρήση *in vitro*.
- Η συγκέντρωση του ProClin™ 950 είναι 0,35%. Περιέχει το ενεργό συστατικό 2-methyl-4-isothiazolin-3-one και μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό του δέρματος, των ματιών, των βλεννογόνων μεμβρανών και της ανώτερης αναπνευστικής οδού. Φοράτε γάντια μίας χρήσης όταν χειρίζεστε αντιδραστήρια.
- Αν θέλετε ένα αντίγραφο του Δελτίου Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού, επικοινωνήστε με τον αντιπρόσωπο ή το περιφερειακό γραφείο της Leica Biosystems, ή εναλλακτικά, επισκεφθείτε τον ιστότοπο της Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com.

- Ο χειρισμός των δειγμάτων, πριν και μετά τη μονιμοποίηση και όλων των υλικών που εκτίθενται σε αυτά, θα πρέπει να γίνεται σαν να ήταν ικανά να μεταδώσουν μόλυνση και θα πρέπει να απορρίπτονται λαμβάνοντας κατάλληλες προφυλάξεις[2]. Μην κάνετε ποτέ αναρρόφηση αντιδραστηρίων με πιπέτα με το στόμα και αποφύγετε να έρθει σε επαφή το δέρμα και οι βλεννογόνοι με τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα. Αν αντιδραστήρια ή δείγματα έρθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετέ τις με άφθονο νερό. Ζητήστε ιατρική συμβουλή.
- Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, κρατικούς και τοπικούς κανονισμούς σχετικά με την απόρριψη οποιωνδήποτε δυνητικά τοξικών συστατικών.
- Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή επιμόλυνση των αντιδραστηρίων, γιατί διαφορετικά ενδέχεται να αυξηθεί η μη ειδική χρώση.
- Ανάκτηση, χρόνοι επώασης ή θερμοκρασίες διαφορετικές από τις καθορισμένες, μπορεί να οδηγήσουν σε εσφαλμένα αποτελέσματα. Οποιαδήποτε τέτοια αλλαγή πρέπει να επικυρώνεται από τον χρήστη.

Οδηγίες Χρήσης

Το πρωτογενές αντίσωμα Ki67 (K2) αναπτύχθηκε για χρήση σε αυτοματοποιημένο σύστημα Bond, σε συνδυασμό με το Bond Polymer Refine Detection. Το συνιστώμενο πρωτόκολλο χρώσης για το πρωτογενές αντίσωμα Ki67 (K2) είναι το IHC Protocol F. Συνιστάται ανάκτηση επιτόπου επαγόμενη με θερμότητα χρησιμοποιώντας το Bond Epitope Retrieval Solution 2 για 20 λεπτά.

Αναμενόμενα Αποτελέσματα

Φυσιολογικοί ιστοί

Ο κλώνος K2 έχρωσε βασικά κύτταρα του λάρυγγα, του δέρματος, του τραχήλου, του παχέος εντέρου και του οισοφάγου. Χρώση επίσης παρατηρήθηκε στον θύμο αδένας, τη μήτρα, τις αμυγδαλές και την υπόφυση. Εντοπίστηκαν λιποκύτταρα και διηθητικά κύτταρα σε μια σειρά από άλλους ιστούς. (Συνολικός αριθμός περιπτώσεων χρώσης = 95).

Νεοπλασματικοί ιστοί

Ο κλώνος K2 εντόπισε πυρήνες πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων φολιδωτών κυτταρικών καρκινωμάτων του οισοφάγου (2/2), του λάρυγγα (1/1), της γλώσσας (2/2), των πνευμόνων (1/1), του τραχήλου (1/1) και του δέρματος (1/2), καθώς και αδενοκαρκινώματα του στομάχου (2/2), του παγκρέατος (1/1), του παχέος εντέρου (2/2) και του ορθού εντέρου (1/2). Ο κλώνος K2 επίσης κατέδειξε πυρηνική χρώση σε καρκινώματα του μαστού (1/2), των πνευμόνων (2/2), του νεφρού (2/2), του παγκρέατος (1/1) και του συκωτιού (2/3), μεταστατικά καρκινώματα σε λεμφογάγγλια (1/2), φολιδωτή μεταπλασία στον τράχηλο (1/1) και αναπλαστικό αστροκύτωμα του εγκεφάλου (1/1). Δεν παρατηρήθηκε καμία χρώση σε θηλωματώδη (2/2) και θυλακιώδη καρκινώματα του θυρεοειδή αδένα (2/2), αδενοκαρκίνωμα των πνευμόνων (1/1), άτυπο καρκινοειδή όγκο του θύμου αδένα (1/1), χοριοειδές πλέγμα θηλώματος του εγκεφάλου (1/1), σεμινώματα των όρχεων (2/2), διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα (1/1), βλεννώδες καρκινώδες κυσταδένωμα (1/1), κακοήθη όγκο γεννητικού κυττάρου (1/1) και ορώδες καρκινώδες κυσταδένωμα της ωοθήκης (1/1) και μεταστατικό καρκίνωμα του συκωτιού (1/1). (Συνολικός αριθμός περιπτώσεων χρώσης = 44).

Το Ki67 (K2) συνιστάται για την αξιολόγηση της κυτταρικής διάδοσης στους φυσιολογικούς και νεοπλαστικούς ιστούς.

Ειδικοί Περιορισμοί του Προϊόντος

Το Ki67 (K2) έχει βελτιστοποιηθεί στη Leica Biosystems για χρήση με το Bond Polymer Refine Detection και βοηθητικά αντιδραστήρια Bond. Οι χρήστες που παρεκκλίνουν από τις συνιστώμενες διαδικασίες εξέτασης, πρέπει να αναλάβουν την ευθύνη για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των ασθενών υπό αυτές τις συνθήκες. Οι χρόνοι του πρωτοκόλλου μπορεί να διαφέρουν λόγω της διαφοροποίησης στη μονιμοποίηση του ιστού και την αποτελεσματικότητα της ενίσχυσης του αντιγόνου και συνεπώς πρέπει να προσδιορίζονται εμπειρικά. Για τη βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάκτησης και των χρόνων του πρωτοκόλλου θα πρέπει να χρησιμοποιούνται δείγματα αντιδραστηρίου αρνητικού ελέγχου.

Αντιμετώπιση Προβλημάτων

Σχετικά με τις διορθωτικές ενέργειες, δείτε την παραπομπή 3.

Επικοινωνήστε με τον διανομέα ή το περιφερειακό γραφείο τής Leica Biosystems για να αναφέρετε ασυνήθιστη χρώση.

Πρόσθετες Πληροφορίες

Μπορείτε να βρείτε περισσότερες πληροφορίες πάνω στην ανοσοχρώση με αντιδραστήρια Bond, υπό τους τίτλους “Αρχή της Διαδικασίας”, “Απαιτούμενα Υλικά”, “Προετοιμασία Δείγματος”, “Ποιοτικός Έλεγχος”, “Επαλήθευση Προσδιορισμού”, “Ερμηνεία της Χρώσης”, “Υπόμνημα για τα Σύμβολα στις Ετικέτες” και “Γενικοί Περιορισμοί” στο τμήμα “Χρήση αντιδραστηρίων Bond” στην τεκμηρίωση χρήσης του Bond.

Βιβλιογραφία

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.

To ProClin™ 950 είναι εμπορικό σήμα της Supelco, τμήμα της Sigma-Aldrich Corporation.

Ημερομηνία Έκδοσης

16 Σεπτέμβριος 2009

Bond™ Brugsklart Primaert Antistof Ki67 (K2)

Katalognummer.: PA0230

Tilsigtet anvendelse

Dette reagens er beregnet til brug ved in vitro-diagnostik.

Ki67 (K2), monoklonalt antistof, er beregnet til brug ved kvalitativ identifikation med lysmikroskopi af humant Ki67 kerneantigen i formalinfikserede, paraffinindstøbte væv ved hjælp af immunhistokemisk farvning med et automatisk Bond™-system.

Den kliniske fortolkning af enhver farvning eller fravær af samme skal ledsages af morfologiske undersøgelser og egnede kontroller samt evalueres af en uddannet patolog, som ser fortolkningen i kontekst med patientens anamnese samt andre diagnostiske prøver.

Resumé og forklaring

Immunhistokemiske teknikker kan anvendes til at påvise tilstedeværelsen af antigener i væv og celler (se "Anvendelse af Bond-reagenser" i Bond-brugervejledningen). Det primære antistof Ki67 (K2) er et brugsklart produkt, som er optimeret specielt til brug med Bond Polymer Refine Detection. Påvisningen af humant Ki67 kerneantigen opnås ved først at lade Ki67 (K2) binde sig til præparatet, og derefter visualisere denne binding ved hjælp af de reagenser, der leveres med detektionssystemet. Brugen af disse produkter sammen med et automatisk Bond-system reducerer risikoen for menneskelige fejl og variabilitet som følge af individuel reagensfortynding, manuel pipettering og reagenspåførsel.

Leverede reagenser

Ki67 (K2) er et murint antihumant monoklonalt antistof produceret som en vævskultursupernatant og leveres i en Tris-bufferjusteret saltvandsopløsning med bærerprotein, indeholder 0,35% ProClin™ 950 som konserveringsmiddel.

Volumen i alt = 7 mL.

Klon

K2.

Immunogen

Rekombinant Ki67-proteinfragment tæt på C-terminalen.

Specificitet

Humant Ki67 kerneantigen udtrykt i alle prolifererende celler under sen G1-, S-, M- og G2-fase i cellecyklussen.

Underklasse

IgG1.

Samlet proteinkoncentration

Ca. 10 mg/mL.

Antistofkoncentration

Større end eller lig med 1 mg/L som bestemt med ELISA.

Fortynding og blanding

Ki67 (K2) primært antistof er optimalt fortyndet til brug på et Bond-system. Rekonstitution, blanding, fortynding eller titrering af dette reagens er ikke påkrævet.

Nødvendige materialer, der ikke medfølger

Der henvises til "Anvendelse af Bond-reagenser" i Bond-brugervejledningen for en komplet liste over materialer, der er nødvendige til præparatbehandling og immunhistokemisk farvning ved hjælp af Bond-systemet.

Opbevaring og stabilitet

Opbevares ved 2–8 °C. Må ikke anvendes efter udløbsdatoen, der er angivet på etiketten på beholderen.

Tegn, som indikerer, at Ki67 (K2) er kontamineret og/eller ustabilt: turbiditet af opløsningen, lugtudvikling og forekomst af præcipitat.

Sættes tilbage til opbevaring ved 2–8 °C umiddelbart efter brug.

Opbevaringsbetingelser, der adskiller sig fra de oven for specificerede, skal verificeres af brugeren[1].

Forholdsregler

- Dette produkt er beregnet til brug i *in vitro*-diagnostik.
- Koncentrationen af ProClin™ 950 er 0,35 %. Det indeholder den aktive ingrediens 2-methyl-4-isothiazolin-3-one og kan give anledning til irritation af hud, øjne, slimhinder og øvre luftveje. Der skal anvendes engangshandsker ved håndtering af reagenserne.
- En kopi af sikkerhedsdatabladet, Material Safety Data Sheet (MSDS), kan fås ved henvendelse til den lokale distributør eller til Leica Biosystems' regionale kontor. Det kan tillige hentes på Leica Biosystems' hjemmeside: www.LeicaBiosystems.com.
- Præparater, både før og efter fiksering, samt alle materialer eksponeret for præparater, skal håndteres som værende i stand til at overføre infektion og skal bortskaffes med passende forholdsregler[2]. Afpipettér ikke reagenser med munden, og undgå at reagenser og præparater kommer i kontakt med hud og slimhinder. Hvis reagenser eller præparater kommer i kontakt med følsomme områder, skal disse områder vaskes med rigelige mængder vand. Søg læge.

- Bortskaffelse af potentielt toksiske komponenter skal ske i overensstemmelse med gældende statslig eller lokal lovgivning.
- Mikrobiel kontaminering af reagenser skal minimeres for at undgå øget uspecifik farvning.
- Genfinding, inkubationstider eller temperaturer, som afviger fra de specificerede, kan give fejlagtige resultater. Enhver ændring heraf skal valideres af brugeren.

Brugsanvisning

Ki67 (K2), primært antistof, er udviklet til brug på et automatisk Bond-system sammen med Bond Polymer Refine Detection. Den anbefalede farvningsprotokol for Ki67 (K2), primært antistof, er IHC Protocol F. Varmeinduceret epitopgenfinding anbefales ved hjælp af Bond Epitope Retrieval Solution 2 i 20 minutter.

Forventede resultater

Normale væv

Klon K2 farvede basalceller i larynx, hud, cervix, colon og øsophagus. Der sås også farvning i thymus, uterus, tonsil og hypofyse. Lipocytter og infiltrative celler blev detekteret i en række andre væv. (Antal farvede cases i alt = 95).

Tumorvæv

Klon K2 detekterede prolifererende cellekerner i pladecellecarcinomer fra øsophagus (2/2), larynx (1/1), tunge (2/2), lunge (1/1), cervix (1/1) og hud (1/2), samt adenocarcinomer fra ventriklen (2/2), pancreas (1/1), colon (2/2) og rectum (1/2). Klon K2 udviste også kernefarvning i carcinomer fra mamma (1/2), lunge (2/2), nyre (2/2), pancreas (1/1) og lever (2/3), metastatiske carcinomer i lymfeknude (1/2), pladecellemetaplasi i cervix (1/1) samt anaplastisk astrocytom fra hjerne (1/1). Der sås ingen farvning i papillifære (2/2) og follikulære thyreoideacarcinomer (2/2), adenocarcinom fra lunge (1/1), atypisk carcinoid fra thymus (1/1), plexus choroideuspapillom fra hjerne (1/1), testikelseminomer (2/2), clearcellecarcinom (1/1), mucinøst cystadenocarcinom (1/1), malign kimcelletumor (1/1) og serøst cystadenocarcinom fra ovarie (1/1) samt metastatisk levercarcinom (1/1). (Antal farvede cases i alt = 44).

Ki67 (K2) anbefales til vurdering af celleproliferation i normale og neoplastiske væv.

Produktspecifikke begrænsninger

Ki67 (K2) er optimeret hos Leica Biosystems til brug med Bond Polymer Refine Detection og Bond hjælpereagenser. Brugere, som afviger fra de anbefalede testprocedurer, må under disse forhold selv tage ansvaret for fortolkningen af patientresultater. Protokoltiderne kan variere på grund af variationer i vævsfiksering og effektiviteten i antigenfremhævning og skal bestemmes empirisk. Der skal anvendes negative reagenskontroller under optimering af genfindingsbetingelser og protokoltider.

Fejlfinding

Der henvises til reference 3 for afhjælpende foranstaltninger.

Kontakt venligst den lokale distributør eller Leica Biosystems' regionale kontor for at rapportere usædvanlig farvning.

Yderligere oplysninger

Yderligere oplysninger om immunfarvning med Bond-reagenser kan findes i "Anvendelse af Bond-reagenser" i Bond-brugervejledningen under overskrifterne Proceduremæssige principper, Nødvendige materialer, Præparatklargøring, Kvalitetskontrol, Analyseverifikation, Fortolkning af farvning, Nøgle til symboler på etiketter og Generelle begrænsninger.

Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.

ProClin™ 950 er et varemærke tilhørende Supelco, en del af Sigma-Aldrich Corporation.

Udgivelsesdato

16. September 2009

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West
Benton Lane
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW
United Kingdom
✆ +44 191 215 4242

16 September 2009

© Leica Biosystems Newcastle Ltd · 95.7947 Rev B · PA0230